



UNIVERSIDAD DE LA RIOJA

TRABAJO FIN DE ESTUDIOS

Título

Estudio comparativo de suelos y sistemas de manejo del
viñedo

Autor/es

JAVIER UGARTE ANDREVA

Director/es

MARÍA FERNANDA RUIZ LARREA y CARMEN TENORIO RODRÍGUEZ ,

Facultad

Facultad de Ciencia y Tecnología

Titulación

Grado en Enología

Departamento

AGRICULTURA Y ALIMENTACIÓN

Curso académico

2016-17



Estudio comparativo de suelos y sistemas de manejo del viñedo, de JAVIER
UGARTE ANDREVA

(publicada por la Universidad de La Rioja) se difunde bajo una Licencia Creative
Commons Reconocimiento-NoComercial-SinObraDerivada 3.0 Unported.

Permisos que vayan más allá de lo cubierto por esta licencia pueden solicitarse a los
titulares del copyright.

© El autor, 2017

© Universidad de La Rioja, 2017

publicaciones.unirioja.es

E-mail: publicaciones@unirioja.es



Trabajo Fin de Grado

Estudio comparativo de suelos y sistemas de manejo del viñedo

JAVIER UGARTE ANDREVA

Tutoras: FERNANDA RUIZ LARREA

CARMEN TENORIO RODRÍGUEZ

Facultad de Ciencia y Tecnología

Grado en Enología

AÑO ACADÉMICO 2016-2017

Índice

ÍNDICE DE TABLAS	iii
ÍNDICE DE FIGURAS	iii
ABREVIATURAS.....	iv
RESUMEN	1
ABSTRACT	1
1. INTRODUCCIÓN	2
1.1 Viñedos de la finca La Grajera	2
1.2 El suelo agrícola y el manejo del viñedo	2
1.3 Microbiota del suelo del viñedo.....	3
2. OBJETIVOS	5
3. MATERIALES Y METODOLOGÍA	6
3.1 Diseño experimental	6
3.2 Referencias catastrales	8
3.3 Datos agronómicos.....	9
3.4 Muestreo de suelo	12
3.5 Análisis edafológicos	13
3.6 Parámetros agroclimáticos.....	14
3.7 Análisis microbiológicos	15
3.8 Análisis estadístico de los datos.....	17
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	18
4.1 Resultados edafológicos.....	18
4.2 Resultados agroclimáticos.....	22
4.3 Resultados microbiológicos.....	23
5. CONCLUSIONES	28
6. REFERENCIAS	29
7. ANEXOS	31
ANEXO I: Resultados edafológicos.	31
ANEXO II: Temperatura y precipitación acumulada (estación de La Grajera).	31
ANEXO III: Resultados microbiológicos.	32

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Relación C/N y contenido en MO oxidable de las muestras analizadas.

Tabla 2. Contenido en N total y humedad de las muestras analizadas.

Tabla 3. Poblaciones microbianas en cada parcela estudiada.

Tabla 4. Autovalores del análisis de componentes principales.

Tabla 5. Coeficientes de función discriminante canónica estandarizadas.

ÍNDICE DE FIGURAS

Fig. 1. Fotografía de la parcela de cultivo ecológico ("ECO").

Fig. 2. Fotografía de la parcela con cubierta vegetal ("CON").

Fig. 3. Fotografía de la parcela control sin cubierta vegetal ("SIN").

Fig. 4. Fotografía de la parcela en pendiente ("PEN").

Fig. 5. Parcelas de cultivo con/sin cubierta y en pendiente.

Fig. 6. Parcela de cultivo ecológico.

Fig. 7. Fotografía de la parcela de cultivo ecológico.

Fig. 8. Fotografía de la parcela de cultivo con cubierta vegetal.

Fig. 9. Fotografía de la parcela de cultivo sin cubierta vegetal.

Fig. 10. Fotografía de la parcela de cultivo en pendiente.

Fig. 11. Comparación de la relación C/N entre las parcelas estudiadas.

Fig. 12. Comparación del contenido en M.O. entre las parcelas estudiadas.

Fig. 13. Comparación del contenido en N total entre las parcelas estudiadas.

Fig. 14. Comparación de la humedad del suelo entre las parcelas estudiadas.

Fig. 15. Temperaturas del suelo.

Fig. 16. Precipitación acumulada (estación de La Grajera).

Fig. 17. Población de levaduras en cada parcela estudiada.

Fig. 18. Población de actinomicetos en cada parcela estudiada.

Fig. 19. Población de fijadores de N en cada parcela estudiada.

Fig. 20. Población de aerobios totales en cada parcela estudiada.

Fig. 21. Análisis de componentes principales.

ABREVIATURAS

AFNOR	Association Française de Normalisation
AIA	Actinomycete isolation agar
CON	Con cubierta
dS	Decisiemens
ECO	Ecológico
Eds.	Editores
EN	European Norm
<i>et al.</i>	Y colaboradores
etc.	Etcétera
g	Gramo
h	Hora
ha	Hectárea
ICP-AES	Espectrometría de emisión atómica de plasma acoplado inductivamente
ISO	International Organization for Standardization
Kg	Kilogramo
L	Litro
m	Metro
MAPA	Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación
mg	Miligramo
mL (corregir ml,etc..)	Mililitro
mm	Milímetro
meq	Miliequivalente
mmho	Milimho
N	Nitrógeno
PCA	Plate Count Agar
MO	Materia orgánica
p. ej.	Por ejemplo

PEN	Pendiente
ppm	Partes por millón
PS	Peso seco
rpm	Revoluciones por minuto
SIN	Sin cubierta
sms	Sobre materia seca
T1	Tiempo 1
Tª	Temperatura
TFG	Trabajo final de Grado
UFC	Unidades Formadoras de Colonias
UTM	Universal Transversal de Mercator
YPD	Yeast Extract Peptone Dextrose
σ	Desviación estandar
°C	Grado Celsius
μg	Microgramo
μL	Microlitro
%	Tanto por ciento
‰	Tanto por mil

RESUMEN

En este trabajo se compararon diferentes manejos del viñedo y topografía del terreno desde un punto de vista edafológico, agronómico y microbiológico. Se estudió una parcela con sistema ecológico y tres con sistema convencional, de las cuales una se diferenciaba por el manejo con cubierta vegetal y otra por su situación en pendiente, siendo la tercera la parcela control, sin cubierta vegetal. Se seleccionaron variables edáficas de relevancia agronómica y microbiológica (contenido en C, N y materia orgánica) y se analizó el suelo de las cuatro parcelas. Se seleccionaron cuatro medios de cultivo para cuatro grandes familias de microorganismos (levaduras, actinomicetos, fijadores de nitrógeno, aerobios totales) y se han cuantificado las poblaciones microbianas de los suelos de cada una de las parcelas mediante técnicas cultivo-dependientes. Los resultados de este trabajo mostraron que la parcela de cultivo ecológico presentó la máxima población de microorganismos descomponedores, que la parcela con cubierta vegetal presentó los valores más elevados de aerobios totales y contenido en materia orgánica y nitrógeno; la parcela control con manejo convencional presentó una gran semejanza en sus parámetros de población microbiana y edafológicos a la parcela con manejo ecológico; y la parcela con pendiente presentó valores inferiores de poblaciones microbianas y de parámetros edafológicos como cabía esperar. La relación C/N y el contenido en materia orgánica fueron las variables que más explicaron estadísticamente la varianza de los resultados.

Palabras clave: viñedo, microbiota, cubierta vegetal, sistema ecológico, relación C/N

ABSTRACT

In this article, different vineyard management systems and topography were compared from a soil, agricultural and microbiological point of view. An organic-system plot was studied, as well as other three conventional-system plots, out of which one was managed with green cover, another one was in slope conditions, and the third one was the control plot, without green cover. Several soil variables with agricultural and microbiological relevance were selected (C, N and organic matter content), and the soils of the four plots were analyzed. Four growth media of four big microbe families were selected (yeasts, actinomycetes, N-fixing bacteria and aerobic microorganisms) and the microbial populations of each plot were quantified through culture-dependent techniques. The results of this work showed that the organically-managed plot showed the largest population of decomposer microorganism; that the green cover plot showed the highest populations of total aerobic microbes as well as organic matter and N content; the control plot with conventional management showed high similarity with the soil and microbiological population parameters of the organically-managed plot; and the plot with conditions of slope showed lower microbiological population and soil parameters figures, as it was expected. The C-to-N ratio and the organic matter were the variables that statistically explained the variance of the results.

Key words: vineyard, microbiota, green cover, organic system, C-to-N ratio

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Viñedos de la finca La Grajera

La finca La Grajera se encuentra situada en la zona oeste de Logroño (La Rioja), limitando con el término municipal de Navarrete. Es un terreno de 258 ha de titularidad pública, perteneciente al Gobierno de La Rioja, ocupado por vegetación arbustiva, monte bajo y bosque de coníferas y encina carrasca, así como cultivos perennes entre los que destaca el viñedo. Se enmarca en un área rica en biodiversidad, debido tanto a su propia configuración como a su proximidad al parque periurbano de La Grajera, que cuenta con un pantano que es hábitat natural de numerosas especies animales y vegetales, siendo una zona de interés ambiental protegida por la normativa autonómica.

El área comprende un terreno de llanura aluvial del río Iregua, afluente del río Ebro. Los materiales de esta llanura son una sucesión de capas de arenas de tamaño fino y medio, limo y arcilla roja. Desde un punto de vista edafológico, los suelos de la Grajera se clasifican en los siguientes órdenes: entisol, inceptisol y alfisol según la taxonomía de suelos de USDA (Soil Survey Staff, 2014).

Además de esta diversidad biológica y edafológica, desde un punto de vista agronómico la finca ofrece una gran diversidad vitícola, que sirve para fines institucionales y además es la base de numerosos ensayos de investigación del Instituto de las Ciencias de la Vid y el Vino (ICVV), así como del presente trabajo. El viñedo ocupa una extensión aproximada de 90 ha, entre las cuales se encuentra una amplia colección de variedades y clones de vid, así como plantaciones de diferentes edades, sistemas de conducción en vaso y espaldera, tipos de suelo y topografía llana e inclinada, regadío y secano, cubiertas vegetales y suelo desnudo, y sistemas de producción ecológico y convencional. Una cuarta parte del viñedo se cultiva en sistema ecológico, si bien el sistema convencional empleado no es intensivo, tanto en las prácticas de abonado (combinación de fertilización orgánica e inorgánica, enterrado de restos de poda, abonado en verde), como en la protección contra plagas (p. ej. uso de feromonas para el control de la polilla del racimo, etc.) y el control de adventicias mediante laboreo.

1.2 El suelo agrícola y el manejo del viñedo

Las propiedades de un determinado suelo, dependen de la historia de formación del suelo, y pueden ser modificadas sustancialmente por la intervención humana a través de las prácticas agrícolas. Para un correcto manejo de los suelos agrícolas, se requiere un adecuado conocimiento de sus características, bajo un concepto amplio del término calidad del suelo que incluya sus propiedades físicas, químicas y biológicas. Entre esas propiedades destacan la textura del suelo (que influye en otras propiedades físicas, como la tasa de infiltración y algunas propiedades químicas, como la capacidad de

intercambio catiónico); el pH (que a su vez afecta a otras propiedades físico-químicas y biológicas); la respiración biológica del suelo y la biodiversidad microbiana.

Las propiedades biológicas del suelo también están interconectadas con otras propiedades físicas y químicas; p. ej. la aireación, la materia orgánica del suelo o el pH afectan a la actividad de muchos microorganismos en los suelos, los cuales por su parte realizan muchas actividades en el ciclo del carbono y los nutrientes. Así, los cambios en las propiedades del suelo debidas a su manejo pueden afectar significativamente a las propiedades biológicas del suelo (Delgado and Gómez, 2016).

Entre los grandes sistemas de cultivo y factores topográficos que pueden afectar a la calidad del suelo del viñedo cabe diferenciar entre el sistema ecológico y el sistema convencional, así como la superficie llana o pendiente, y determinadas prácticas como la cubierta vegetal o el suelo desnudo.

Para los viñedos de la cuenca mediterránea, todavía se desconoce en gran medida hasta qué punto la cubierta vegetal compite por la humedad, y sus beneficios en términos de mejora física del suelo. La cubierta vegetal puede mejorar algunos parámetros físico-químicos del suelo, tanto por una mayor protección física de la superficie del suelo frente a la erosión como por la contribución de materia orgánica de la parte aérea y el sistema radicular y por la mayor estabilidad estructural del suelo debida al carbono orgánico del suelo y la agregación (Ruiz-Colmenero *et al.*, 2013).

Por otra parte, el manejo del cultivo en los sistemas de producción de viñedo, así como el clima y la topografía, influyen directamente a la estructura de la comunidad microbiana a través de una serie de impactos en las propiedades del suelo (Burns *et al.*, 2015; Burns *et al.*, 2016). Además, a pesar del papel esencial de las comunidades microbianas en los agro-ecosistemas, todavía existe un conocimiento limitado de la respuesta compleja de la diversidad microbiana a los sistemas de cultivo convencional y ecológico (Lupatini *et al.*, 2017).

1.3 Microbiota del suelo del viñedo

La calidad del suelo está determinada por sus componentes químicos, físicos y biológicos y por cómo interactúan entre sí. El componente biológico del suelo está representado principalmente por microorganismos, que desempeñan importantes funciones y juegan un papel clave en la cadena alimentaria y la nutrición de las plantas (Corneo *et al.*, 2013). Las bacterias representan la mayor parte de la biodiversidad en los ecosistemas de suelos, y están implicadas en múltiples funciones del ecosistema, incluyendo el ciclo de nutrientes y la salud de la planta (Lupatini *et al.*, 2017).

La preservación de la diversidad microbiana del suelo es crucial para un agro-ecosistema equilibrado, y además tiene implicaciones tanto económicas como ecológicas. Así, el estudio de la diversidad microbiana y de cómo varía en el espacio y en el tiempo es hoy en día un tema de gran interés (Corneo *et al.*, 2013).

Actualmente, con las tecnologías “ómicas” basadas en la secuenciación masiva y el procesamiento de datos, se han abierto dos caminos para el análisis de comunidades complejas como la microbiota del suelo: las poblaciones de microorganismos cultivables en condiciones de laboratorio y analizadas mediante técnicas clásicas de cultivo de la microbiología, y la población de ambos tipos de microorganismos: los cultivables y los no cultivables, analizados en la metagenómica mediante el análisis del DNA total extraído de la muestra (Zarraonaindia and Gilbert, 2015).

Por cuestiones de índole práctica, en la parte de análisis microbiológico del presente trabajo se ha realizado el análisis basado en los métodos tradicionales dependientes del cultivo en laboratorio, lo que permitirá observar las diferencias en la composición y magnitud de las poblaciones microbianas de los diversos suelos de viñedo estudiados. Por los mismos motivos, en este trabajo se han analizado muestras de suelo superficial, si bien es conocido que la microbiota asociada a las raíces y la rizosfera de la vid se diferencia de la microbiota del suelo en masa y de la microbiota asociada a la rizosfera del resto de plantas adventicias presentes en una parcela de viñedo. En todo caso, tanto la vid como adventicias seleccionan su microbiota de la misma reserva de microorganismos del suelo (Samad *et al.*, 2017), que es la que se estudia en este TFG.

2. OBJETIVOS

Los objetivos planteados para este Trabajo Fin de Grado fueron los siguientes:

1. Estudiar desde el punto de vista agronómico cuatro parcelas de viñedo de la finca institucional de la Grajera con distintas características y manejo del cultivo: a) sistema de cultivo ecológico; b) sistema convencional, en superficie llana y suelo desnudo; c) viñedo con cubierta vegetal, en superficie llana y manejo convencional del viñedo; d) viñedo en pendiente, suelo desnudo y manejo convencional.
2. Estudiar las características físico-químicas de los suelos de esas cuatro parcelas tomando muestras de la superficie del suelo.
3. Cuantificar y caracterizar mediante técnicas de cultivo diferencial la población microbiana de los suelos de las parcelas del estudio.
4. Buscar posibles relaciones entre las características físico-químicas de los suelos, la microbiota de los mismos y el manejo agronómico del viñedo.
5. Establecer las pautas y la metodología de trabajo para un proyecto posterior a mayor largo plazo para el seguimiento y estudio de la microbiota del suelo del viñedo, y de su relación con el manejo del cultivo del viñedo, las condiciones agroclimáticas del mismo y con la calidad de la uva recogida finalmente en la vendimia.

3. MATERIALES Y METODOLOGÍA

3.1 Diseño experimental

Para el estudio comparativo de la microbiota del suelo del viñedo, se eligieron cuatro parcelas representativas de cuatro condiciones agronómicas diferentes:

- 1) Cultivo de viñedo de agricultura ecológica (Sus muestras de suelo se codifican con el código "ECO").
- 2) Cultivo de viñedo con cubierta vegetal (código "CON").
- 3) Cultivo de viñedo sin cubierta vegetal, que se considera cultivo testigo o control (código "SIN").
- 4) Cultivo de viñedo en pendiente (código "PEN").

Se eligieron estas cuatro parcelas con el objetivo de que los parámetros edáficos, climáticos y varietales fueran los mismos, de forma que las variaciones en los resultados microbiológicos sean atribuibles al aspecto agronómico elegido que diferencia cada parcela respecto a la parcela control horizontal, con suelo sin cubierta vegetal y con manejo convencional del viñedo.



Fig. 1. Fotografía de la parcela de cultivo ecológico ("ECO").



Fig. 2. Fotografía de la parcela con cubierta vegetal ("CON").



Fig. 3. Fotografía de la parcela control sin cubierta vegetal ("SIN").



Fig. 4. Fotografía de la parcela en pendiente ("PEN").

3.2 Referencias catastrales

Para los casos de estudio (parcelas) de cultivo con cubierta vegetal (“CON”); cultivo control sin cubierta vegetal (“SIN”); y cultivo en pendiente (“PEN”) se eligió la misma parcela catastral, ubicada en el municipio de Logroño, polígono 34, parcela 1, recinto 3, en diferentes zonas. Coordenadas UTM: 539768 / 4698822.



Fig. 5. Parcelas de cultivo con/sin cubierta y en pendiente.

En el caso del cultivo ecológico (“ECO”), se eligió una parcela catastral próxima a la anterior, ubicada en Logroño, polígono 33, parcela 1, recinto 5. Coord. UTM: 540029 / 4698330.



Fig. 6. Parcela de cultivo ecológico.

3.3 Datos agronómicos

Parcela 1: Cultivo ecológico ("ECO")

- Cultivo: Viñedo
- Variedad: Tempranillo sobre R-110
- Año plantación: 1978
- Marco: 2,6 m x 1,2 m
- Sistema de formación: vaso
- Mantenimiento del suelo: laboreo
- Incorporación restos de poda: sí
- Condiciones de riego: secano
- Sistema de cultivo: ecológico
- Tipo de fertilización: química autorizada y orgánica
- Topografía: llana
- Producción media: 4.000 Kg/ha



Fig. 7. Fotografía de la parcela de cultivo ecológico.

Parcela 2: Cultivo con cubierta vegetal ("CON")

- Cultivo: viñedo
- Variedad: Tempranillo sobre R-110
- Año plantación: 1992
- Marco: 2,8 m x 1,2 m
- Sistema de formación: vaso
- Mantenimiento del suelo: cubierta vegetal espontánea
- Incorporación restos de poda: sí
- Condiciones de riego: secano con riego de apoyo puntual
- Sistema de cultivo: convencional
- Tipo de fertilización: química y orgánica
- Topografía: llana
- Producción media: 6.000 Kg/ha



Fig. 8. Fotografía de la parcela de cultivo con cubierta vegetal.

Parcela 3: Cultivo sin cubierta vegetal ("SIN")

- Cultivo: viñedo
- Variedad: Tempranillo sobre R-110
- Año plantación: 1985
- Marco: 2,8 m x 1,2 m
- Sistema de formación: vaso
- Mantenimiento del suelo: laboreo
- Incorporación restos de poda: sí
- Condiciones de riego: secano con riego de apoyo puntual
- Sistema de cultivo: convencional
- Tipo de fertilización: química y orgánica
- Topografía: llana
- Producción media: 6.000 Kg/ha



Fig. 9. Fotografía de la parcela de cultivo sin cubierta vegetal.

Parcela 4: Cultivo en pendiente ("PEN")

- Cultivo: viñedo
- Variedad: Tempranillo sobre R-110
- Año plantación: 1985
- Marco: 2,8 m x 1,2 m
- Sistema de formación: espaldera
- Mantenimiento del suelo: laboreo
- Incorporación restos de poda: sí
- Condiciones de riego: secano con riego de apoyo puntual
- Sistema de cultivo: convencional
- Tipo de fertilización: química y orgánica
- Topografía: pendiente
- Producción media: 6.000 Kg/ha



Fig. 10. Fotografía de la parcela de cultivo en pendiente.

3.4 Muestreo de suelo

Se realizó un muestreo en invierno (24/02/2017) y se realizó el análisis edafológico completo, y sería interesante completar el estudio con muestreos de primavera-verano y de otoño, tras la caída de las hojas y, en su caso, racimos, ya que suponen un aporte de materia orgánica importante a la hora de evaluar las poblaciones microbianas del suelo.

En cada uno de las parcelas se tomaron cinco repeticiones para disponer de una estadística fiable, de manera que las muestras de invierno, que se ha considerado “tiempo 1” o “T1”, quedaron codificadas de la siguiente forma:

- ECO1.T1, ECO2.T1, ECO3.T1, ECO4.T1, ECO5.T1
- CON1.T1, CON2.T1, CON3.T1, CON4.T1, CON5.T1
- SIN1.T1, SIN2.T1, SIN3.T1, SIN4.T1, SIN5.T1
- PEN1.T1, PEN2.T1, PEN3.T1, PEN4.T1, PEN5.T1

La forma de realizar el muestreo, repetido un total de cinco veces por cada parcela, fue la siguiente:

- 1) Dentro de cada parcela se eligió una vid al azar, teniendo cuidado de dejar una calle como zona de amortiguamiento a cada lado de la parcela seleccionada, y se colocó una estaca en ese punto, junto a la cepa, rotulando la parcela correspondiente (ECO, CON, SIN, PEN) y el número (1 a 5) de la repetición.
- 2) Se tomó una muestra de 100 g de suelo superficial a 60 cm de esa cepa hacia el interior de la calle. Se emplearon para ello recipientes estériles. Para que el muestreo fuese representativo, se tomó suelo de otros tres puntos, próximos a cepas alternas en zig-zag dentro de la misma calle (dos filas contiguas), mezclando las cuatro muestras obtenidas en una bolsa con zip. El esquema seguido es el siguiente:

VID 1 VID 2 VID 3 VID 4 VID 5 VID6 VID 7 VID 8 VID 9 VID10

VID 1 VID 2 VID 3 VID 4 VID 5 VID6 VID 7 VID 8 VID 9 VID10

El esquema anterior indica que la muestra del suelo se tomó de la zona próxima a las vides marcadas en rojo (1, 4, 7 y 10) dentro de la misma calle, a 60 cm de cada planta.

- 3) El suelo proveniente de los cuatro puntos fue agitado y homogeneizado en la bolsa con zip, de la que se extrajo una cantidad aproximada de 100 g en un bote estéril, que fue debidamente etiquetado con el código correspondiente, congelado a -20°C y mantenido a esa temperatura hasta el momento de su análisis microbiológico.
- 4) El resto del suelo de la bolsa con zip se utilizó en el muestreo de invierno para hacer un análisis de suelo completo inicial.

3.5 Análisis edafológicos

El análisis edafológico se realizó en el laboratorio Regional de La Grajera, y para cada parcela se determinaron los siguientes parámetros con los métodos indicados:

Granulometría: Por difractometría laser con analizador de tamaño de partículas Beckman Coulter LS 13320 (equipado con Módulo de análisis universal de líquidos y automuestreador), basado en ISO 13320-1). Las fracciones analizadas (expresadas en %) son:

- Arena (2-0,05 mm).
- Limo (0,05-0,002 mm)
- Arcilla (<0,002 mm).

Carbonatos totales: Método EN 15936:2012 (punto 9.1.3) con analizador de carbono inorgánico CO-202 de Equilab, que permite efectuar un ataque de la muestra con ácido a 100°C, y cuantificar con celda de infrarrojos el CO₂ liberado. Los resultados se expresan en %CaCO₃, es decir, los carbonatos existentes (cálcicos y magnésicos, cuando los hay) se expresan como carbonato cálcico.

Caliza activa. Método Nijelsohn (Método oficiales de análisis del MAPA año 1994 (tomo III, pág. 280). Es la determinación del carbonato disuelto al agitar la muestra durante 2h con oxalato amónico 0.2N (en relación suelo:extractante de 1:20). La valoración del carbonato disuelto se efectúa con el analizador de carbono inorgánico CO-202 de Equilab, sobre una alícuota del extracto filtrado. La Caliza activa se expresa en %CaCO₃

Materia orgánica oxidable. Método Walkley-Black (Método oficiales de análisis del MAPA año 1994 (tomo III, pág. 281), que consiste en una volumetría por retroceso (con sal de Mohr para valorar el dicromato no utilizado en la reacción de oxidación del C orgánico), con autovalorador Metrohm. El resultado se expresa en % materia orgánica oxidable.

Conductividad eléctrica y pH en suspensión suelo:agua (1:5). Método EN 15933:2012 para pH y EN 13038:2011 para conductividad eléctrica, midiendo con autovalorador Metrohm dotado de potenciómetro (para medir pH) y conductímetro. La conductividad se expresa en dS/m a 25°C (1dS/m = 1 mmho/cm).

Capacidad de Intercambio Catiónico (CIC) y cationes asimilables (Ca, Mg). Método ISO 23470 (y AFNOR NFX 31 130) basado en la extracción con Cohex al pH del suelo. Sobre el extracto se determina la capacidad de cambio real por colorimetría con AutoAnalyzer 3 de Seal Analytical y los cationes asimilables (Ca, Mg) por ICP-AES con equipo Perkin Elmer Optima 8300. Los resultados se expresan en meq/100g suelo.

Elementos extraíbles con solución Mehlich 3: Al, Ca, Cu, P, Fe, Mg, Mn, Pb, K, Na, sulfatos, Zn. Extracción con el extractante universal Mehlich III, que contiene: CH₃COOH 0,2M; NH₄NO₃ 0,25M; NH₄F 0,015M; HNO₃ 0,01M y EDTA 0,01M, con un pH ajustado a 2,5 (SCHRODER, ZHANG ET AL.(2009): J. AOAC Int. 92, 91–102 y 995-1008). En el extracto se determinan los elementos extraíbles (Al, Ca, Cu, P, Fe, Mg, Mn,

Pb, K, Na, sulfatos, Zn) mediante ICP-AES con equipo Perkin Elmer Optima. Los resultados se expresan en ppm

En el análisis correspondiente a la época de muestreo (invierno), se realizaron las siguientes determinaciones, en este caso con cinco repeticiones para llevar a cabo la comparación estadística entre las parcelas de estudio:

Materia orgánica oxidable. Método Walkley-Black (Método oficiales de análisis del MAPA año 1994 (tomo III, pág. 281), que consiste en una volumetría por retroceso (con sal de Mohr para valorar el dicromato no utilizado en la reacción de oxidación del C orgánico), con autovalorador Metrohm. El resultado se expresa en % materia orgánica oxidable.

Nitrógeno elemental. Método Dumas con analizador elemental Truspec CNS de Leco, basado en EN 16168:2012. El equipo quema la muestra a 950°C y determina el nitrógeno (como N₂, después de haber reducido los NO_x con cobre caliente) con una célula de termconductividad. Los resultados se expresan como ‰ N, es decir g N/Kg suelo

Relación C/N: calculado como la relación de (MO/1,724)/N.

Humedad: en % sobre materia seca, método de gravimetría.

Se eligieron esas cuatro variables considerando que pueden ser las que más influencia puedan ejercer en el desarrollo de las comunidades microbianas.

3.6 Parámetros agroclimáticos

Se consideraron diferentes parámetros agroclimáticos para establecer correlaciones con los resultados del análisis microbiológico del suelo. Los datos se tomaron de la estación agroclimática de Logroño, dependiente del Gobierno de La Rioja, instalada en 2004 en propia finca objeto de ensayo en La Grajera, a 465 m de altitud, con coordenadas UTM 540001 / 4698711. En concreto, se evaluaron:

- Temperatura media del suelo en los cuatro meses anteriores a la toma de muestras, en °C, común para las cuatro parcelas estudiadas.
- Humedad media del suelo, en %,
- Precipitación acumulada en los cuatro meses anteriores a la toma de muestras, común para las cuatro parcelas estudiadas.

La temperatura del suelo y la precipitación acumulada se obtuvieron de los datos ofrecidos por el Servicio de Información Agroclimática de la estación mencionada, disponibles en la página web: <http://www.larioja.org/agricultura/es/informacion-agroclimatica>. La humedad media del suelo ya se determinó en el análisis edafológico. Posteriormente se calculó el valor medio de las cinco muestras tomadas en cada parcela.

3.7 Análisis microbiológicos

Estos análisis se realizaron en los laboratorios del ICVV. Se seleccionaron los medios:

- YPD-agar, selectivo para levaduras, por el interés enológico que supone el analizar la población de levaduras del suelo del viñedo.
- Actinomycete isolation agar, medio selectivo para actinomicetos, bacterias Gram positivas descomponedoras de la materia orgánica.
- Medio de Burk: específico para el aislamiento y el cultivo de las bacterias fijadoras del nitrógeno.
- Plate Count agar: medio para el recuento total de microorganismos aerobios.

Los análisis se llevaron a cabo del siguiente modo: 10 g de muestra de tierra se descongelaron y en condiciones estériles se trasvasaron a un bote con 95 mL de solución salina estéril (0.9% NaCl en agua) y se mantuvieron en agitación durante 1 h a 130 rpm a temperatura ambiente (unos 25 °C). Se sembraron en el medio apropiado diluciones de orden 10 de la suspensión obtenida tras la agitación.

Por otro lado, se pesó la misma cantidad de tierra de cada muestra y se dejó 24 horas en una estufa a 60 °C para poder determinar el peso seco y la cantidad de humedad presente en la tierra.

- **Cultivos microbiológicos**

Después de la hora de agitación se prepararon diluciones seriadas de cada muestra y se sembraron en los medios YPD-agar, Actinomycete isolation agar, Burk's y Plate Count agar indicados más abajo, 50 µL de las siguientes diluciones:

- | | |
|--------------------------------------|-----------------------------|
| - MEDIO YPD-AGAR: | $10^0, 10^{-1}, 10^{-2}$ |
| - MEDIO ACTINOMYCETE ISOLATION AGAR: | $10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}$ |
| - MEDIO BURK'S: | $10^{-2}, 10^{-3}, 10^{-4}$ |
| - MEDIO PLATE COUNT AGAR: | $10^{-2}, 10^{-3}, 10^{-4}$ |

Se incubaron en una estufa a 30 °C durante dos o tres días y después se procedió al recuento de las colonias. Para sacar las unidades formadoras de colonia por gramo de peso seco se llevó a cabo el siguiente cálculo:

$$N^{\circ} \text{ colonias} * D * 200 / g1 = \text{UFC por gramo de suelo (PS)}$$

Siendo:

- D: factor de dilución
- g1: peso seco por gramo de tierra

Respecto a los medios empleados, se tuvieron en cuenta las siguientes consideraciones:

- YPD-agar con penicilina y estreptomicina como inhibidores del crecimiento de bacterias, y en las placas sembradas se deben poner cristales de bifenilo para inhibir el crecimiento de hongos.

- Para estudiar levaduras en muestras de tierras de viñedo hay que trabajar con diluciones 10^{-1} – 10^{-2} para obtener unos buenos recuentos y es muy importante poner bifenilo en las placas para que no haya contaminaciones de hongos, también es necesario que todas las muestras estén bien homogeneizadas a la hora de tomar las alícuotas y hacer las diluciones seriadas.
- Los aerobios totales se cultivaron en medio PCA, bajo condiciones aerobias y con cristales de bifenilo. Se sembraron diluciones de 10^{-2} – 10^{-4} .
- Para estudiar los aerobios totales es muy importante hacer el recuento a los 2 – 3 días porque si no las colonias crecen demasiado y no se puede contar bien debido a que unas se superponen con otras.

- **Composición de los medios de cultivo empleados**

MEDIO YPD-AGAR (YPD) (para levaduras)

REACTIVOS	1L
1% EXTRACTO DE LEVADURA	10 g
2% GLUCOSA	20 g
2% PEPTONA	20g
2% AGAR	20 g
ANTIBIÓTICOS	
Penicilina 50 µg/ml	
Estreptomycin 100 µg/ml	

MEDIO ACTINOMYCETE ISOLATION AGAR (Acti) (para actinobacterias, descomponedoras de materia orgánica)

REACTIVOS	1L
ACTINOMYCETES ISOLATION AGAR	22 g
GLICEROL	5 g
ANTIBIÓTICOS	
Nistatina 200 µg/ml	

MEDIO PLATE COUNT AGAR (PCA) (para microorganismos aerobios)

REACTIVOS	1L
PLATE COUNT AGAR	23,5 g
GLICEROL	5 g
ANTIBIÓTICOS	
Nistatina 200 µg/ml	

*Los antibióticos se añaden después de autoclavar.

MEDIO BURK'S (para microorganismos fijadores de nitrógeno)

REACTIVOS	1L
K ₂ HPO ₄	0,8 g
KH ₂ PO ₄	0,2 g
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0,2 g
NaCl	0,2 g
CaSO ₄	0,1 g
*Fe-Mo mixture	1ml

Sucrose		20 g
H ₃ BO ₃	1 mg/10 ml	1 ml
ZnSO ₄ .7H ₂ O	1 mg/10 ml	1 ml
MnSO ₄ .4H ₂ O	1 mg/10 ml	100 µl
CuSO ₄ .5H ₂ O	3 mg/10 ml	10 µl
KI	1mg/10 ml	10 µl
Agua destilada		1 L
Agar		20 g
Ajustar pH a 7.3		
Nistatina		0,2 g
*Fe-Mo mixture		
FeCl ₃ .6H ₂ O	1,45 g	
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0,253 g	
Agua destilada	100 ml	

3.8 Análisis estadístico de los datos

Se realizó el análisis de varianza (ANOVA) de los datos con distribución normal y homogénea de la varianza, y el análisis de componentes principales (PCA) empleándose el software IBM-SPSS Statistics 22.0 para Windows (IBM-SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Resultados edafológicos

Los análisis de suelo iniciales de cada una de las parcelas se recogen en el anexo I.

Esos resultados edafológicos, basados en una muestra homogeneizada de las cinco réplicas de cada parcela, indican que la situación de partida del suelo de cada parcela presenta algunas diferencias en ciertos parámetros relevantes para el estudio comparativo del presente estudio.

Los valores de pH sí son prácticamente iguales entre parcelas, variando de 8,1 hasta 8,3, teniendo un carácter ligeramente alcalino, y se consideran adecuados para la actividad microbiana, al no ser un pH extremo que limite la descomposición de la materia orgánica, la nitrificación o la fijación de N₂ (Delgado and Gómez, 2016).

En cuanto a la granulometría, el terreno en pendiente presenta una mayor proporción de arcilla (27,4%) y menor de arena (13,7%) que el resto de parcelas, por lo que este factor debe tenerse en cuenta a la hora de interpretar los resultados agronómicos y microbiológicos, si bien, este contenido en arcilla favorece la retención del agua y compensa el efecto de la pendiente en el contenido de humedad del suelo y minimiza las diferencias entre parcelas en el momento de la toma de muestras, disminuyendo el efecto de la humedad del terreno en las comparaciones.

Los resultados de interés edáfico obtenidos de las muestras tomadas el 24 de febrero de 2017 para su posterior análisis microbiológico, se muestran en las siguientes tablas:

Tabla 1. Relación C/N y contenido en MO oxidable de las muestras analizadas.

Repetición	Relación C/N	Media y desviación estándar	Materia Orgánica oxidable (%)	Media y desviación estándar
ECO1.T1	8,2	7,7±0,7	0,98	1,01±0,14
ECO2.T1	7,9		1,05	
ECO3.T1	7,0		0,89	
ECO4.T1	6,9		0,89	
ECO5.T1	8,3		1,23	
CON1.T1	8,5	8,1±0,6	1,96	1,90±0,15
CON2.T1	7,2		1,71	
CON3.T1	8,6		1,76	
CON4.T1	8,2		2,06	
CON5.T1	8,2		1,99	
SIN1.T1	6,6	6,9±0,5	0,82	0,98±0,36
SIN2.T1	6,6		0,75	
SIN3.T1	6,6		0,73	
SIN4.T1	6,9		1,01	
SIN5.T1	7,7		1,60	
PEN1.T1	3,6	4,6±0,7	0,48	0,61±0,13
PEN2.T1	4,1		0,50	
PEN3.T1	5,3		0,74	
PEN4.T1	5,0		0,77	
PEN5.T1	5,0		0,58	

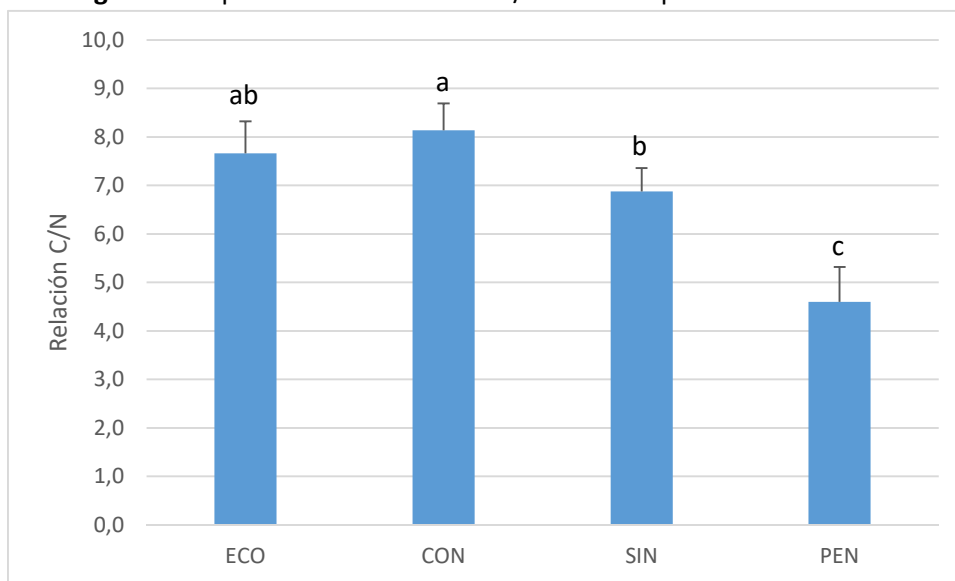
Tabla 2. Contenido en N total y humedad de las muestras analizadas.

Repetición	Nitrógeno total (‰)	Media y desviación estándar	Humedad (% sms)	Media y desviación estándar
ECO1.T1	0,90	0,99±0,08	14,4	14,5±0,7
ECO2.T1	0,99		14,3	
ECO3.T1	0,96		13,9	
ECO4.T1	0,98		14,1	
ECO5.T1	1,12		15,7	
CON1.T1	1,75	1,76±0,13	17,5	16,9±0,4
CON2.T1	1,78		16,4	
CON3.T1	1,54		16,8	
CON4.T1	1,89		16,9	
CON5.T1	1,82		17,1	
SIN1.T1	0,94	1,06±0,31	14,4	14,4±1,3
SIN2.T1	0,85		13,1	
SIN3.T1	0,83		13,2	
SIN4.T1	1,11		15,2	
SIN5.T1	1,57		16,2	
PEN1.T1	1,01	1,00±0,10	16,4	15,6±1,1
PEN2.T1	0,92		15,4	
PEN3.T1	1,06		16,8	
PEN4.T1	1,14		15,7	
PEN5.T1	0,88		13,9	

- Relación C/N

La relación C/N es un parámetro que mide la fertilidad del suelo y que influye directamente en la actividad microbiana y los procesos de mineralización. Los valores obtenidos se consideran dentro del mismo rango (C/N entre $6,9 \pm 0,5$ y $8,1 \pm 0,6$), correspondiendo a suelos de fertilidad media-baja, salvo en el caso de cultivo en pendiente (C/N = $4,6 \pm 0,7$) cuyo valor es inferior al resto, lo cual indica una menor fertilidad y peores condiciones para la actividad microbiana, ya que los microorganismos requieren un ratio aproximado de 8:1 (Quemada *et al.*, 2016). Ello es debido probablemente al efecto de lixiviación de materia orgánica e inorgánica en topografía inclinada por el agua gravitacional, así como a la erosión.

Fig. 11. Comparación de la relación C/N entre las parcelas estudiadas.

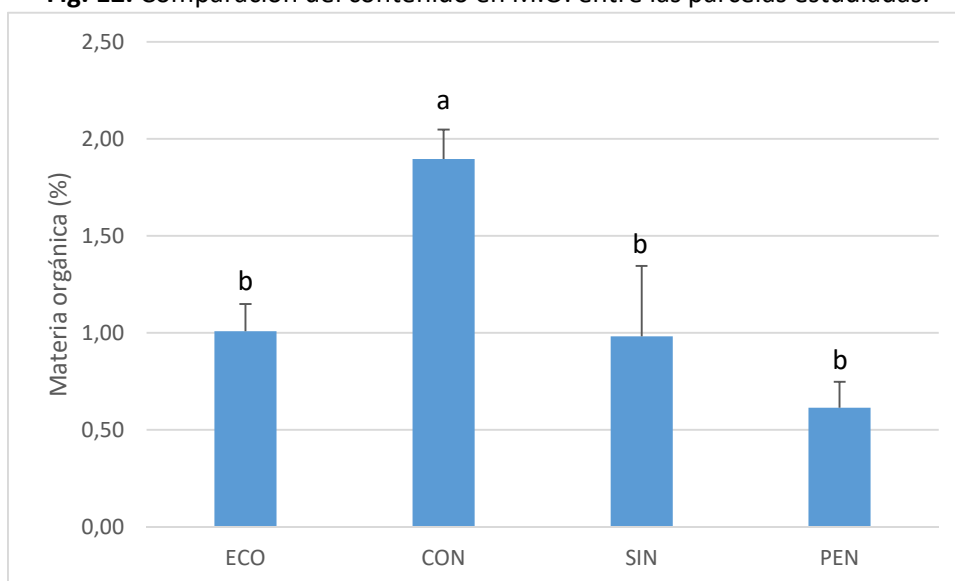


Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas entre los valores.

- Materia orgánica

En cuanto al contenido en materia orgánica, se aprecian diferencias importantes ya que la parcela con cubierta vegetal destaca con casi el doble de contenido ($1,90\% \pm 0,15$) frente a la ecológica ($1,01\% \pm 0,14$) y sin cubierta ($0,98\% \pm 0,36$). Estos valores se consideran adecuados para un suelo equilibrado biológica y químicamente. Sin embargo, la zona en pendiente vuelve a presentar un valor bajo respecto a las demás parcelas ($0,61\% \pm 0,13$), quizás debido a la lixiviación y la erosión anteriormente citadas, lo cual es un síntoma de desequilibrio que influirá negativamente en la actividad microbiana, al disminuir la disponibilidad de C como fuente de energía para la microbiota del suelo (Quemada *et al.*, 2016).

Fig. 12. Comparación del contenido en M.O. entre las parcelas estudiadas.



Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas entre los valores.

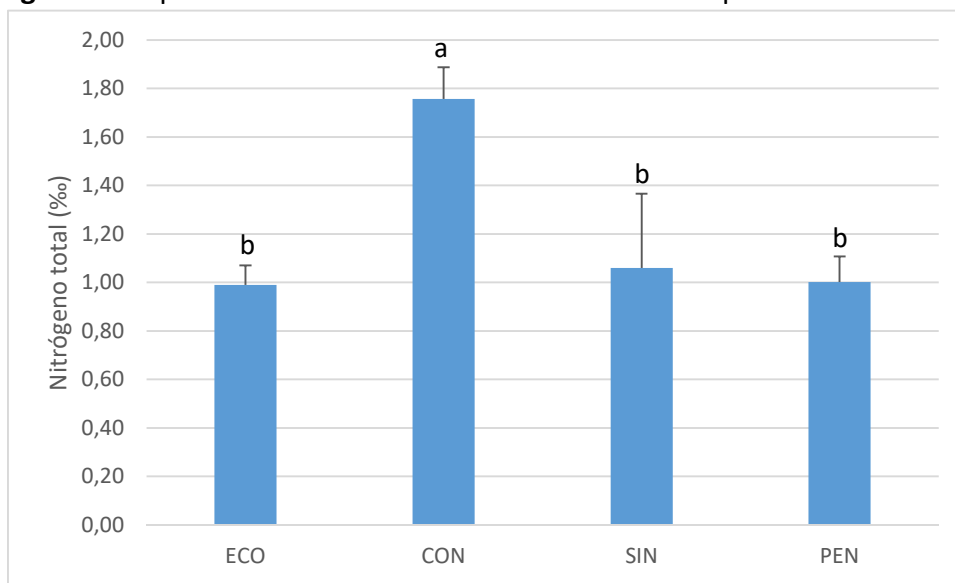
- Nitrógeno

Los valores de N total son más elevados en el cultivo con cubierta vegetal (1,76 ‰ ± 0,13) que en el resto de parcelas (aproximadamente 1%). En todos los casos se consideran niveles adecuados acordes con buenas prácticas de abonado nitrogenado.

El mayor contenido en N de la parcela con cubierta vegetal podría estar relacionado, además de la captación que la propia cubierta hace de nutrientes y su posterior degradación, así como una menor lixiviación de compuestos nitrogenados. El abonado no influyó en la diferencia observada, ya que en ninguna de las parcelas con manejo convencional (con cubierta, sin cubierta, en pendiente) se había realizado fertilización antes de la fecha de toma de muestras.

Otra fuente de nitrógeno que podría influir en el contenido de N elemental del suelo, además del abonado, es la fijación microbiana de N₂.

Fig. 13. Comparación del contenido en N total entre las parcelas estudiadas



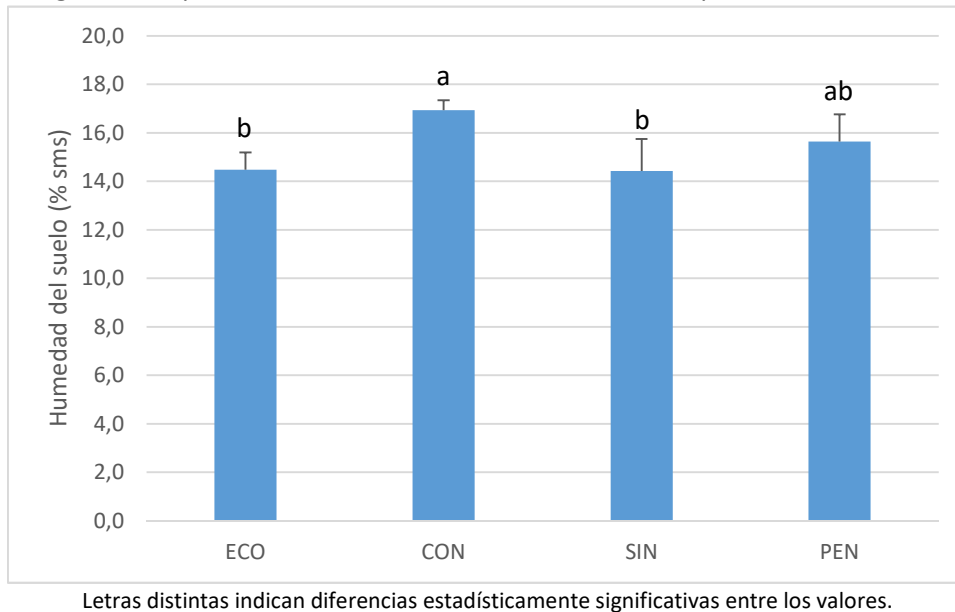
Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas entre los valores.

- Humedad del suelo

La humedad del suelo presenta valores similares en las cuatro parcelas, si bien es ligeramente superior con cubierta vegetal (16,9% ± 0,4) y en pendiente (15,6% ± 1,1). Ello podría deberse a la retención del agua que ejerce el mayor contenido en materia vegetal en el primer caso, y el mayor contenido en arcilla, en el segundo.

Junto con la vegetación, la estructura de la comunidad microbiana está influenciada sobre todo por la temperatura y humedad del suelo, que cambia con las estaciones (Balser *et al.*, 2010).

Fig. 14. Comparación de la humedad del suelo entre las parcelas estudiadas.



4.2 Resultados agroclimáticos

Para la toma de muestras del 24 de febrero de 2017, los datos agroclimáticos de los cuatro meses anteriores se reflejan en el anexo II.

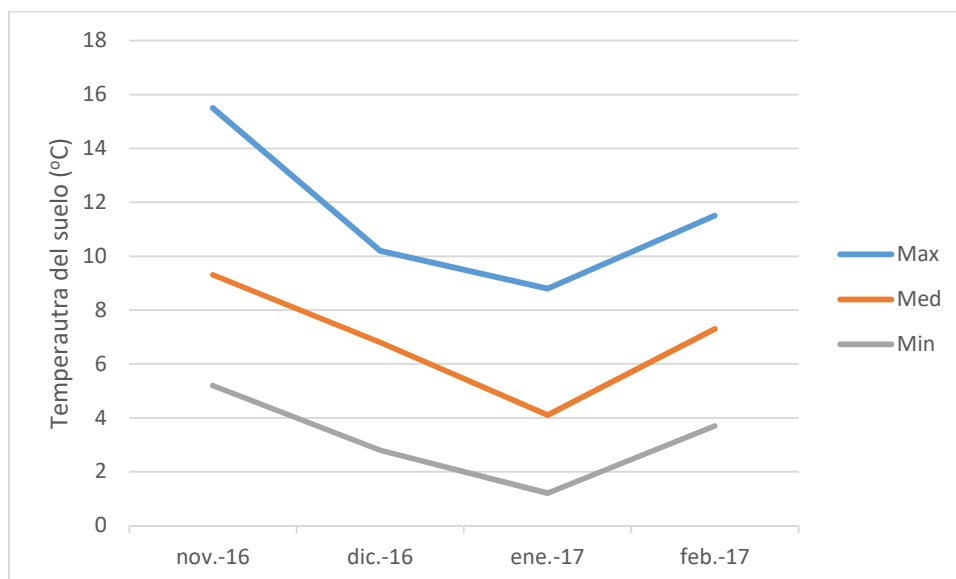


Fig. 15. Temperaturas del suelo

La temperatura es un factor clave en el desarrollo microbiano, siendo esperable un aumento de población en los meses estivales con el aumento de la temperatura, pero no así en las familias y especies presentes, ya que los últimos estudios sugieren que no hay cambios estacionales respecto a la estructura de las comunidades microbianas presentes en el suelo de un cultivo de viñedo (Corneo *et al.*, 2013).

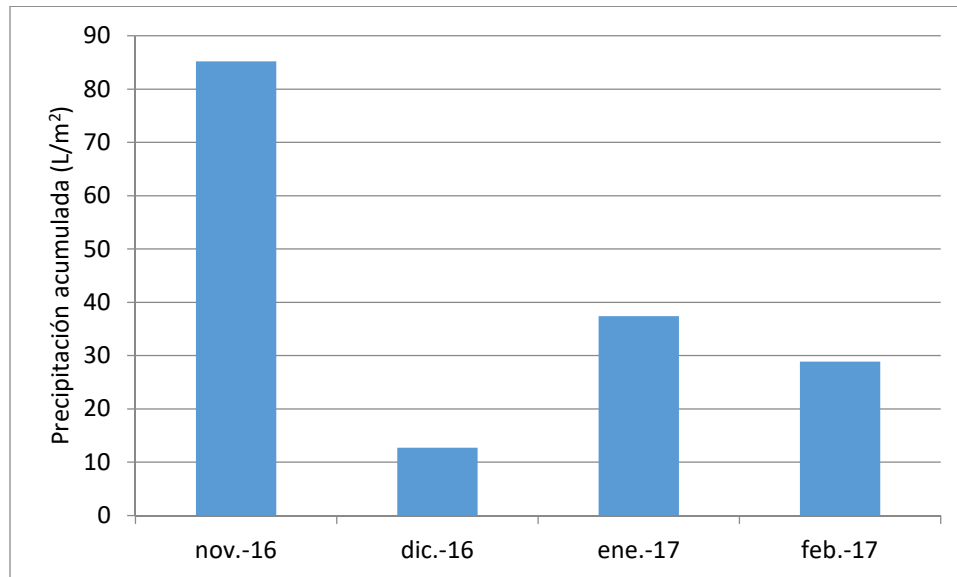


Fig. 16. Precipitación acumulada (estación de La Grajera).

4.3 Resultados microbiológicos

Los resultados obtenidos de recuentos de los cultivos realizados de las muestras de los suelos estudiados se muestran en el anexo III.

A continuación se presentan los resultados de la población microbiana de dos formas:

- 1) Comparando la estructura de la comunidad microbiana dentro de cada parcela, como poblaciones de las distintas familias de microorganismos por tipo de suelo de viñedo,
- 2) Comparando cada familia de microorganismos entre todas las parcelas estudiadas.

Poblaciones microbianas por sistema de cultivo o topografía

Las comunidades microbianas reflejan la influencia del manejo del viñedo, pero además, las comunidades de hongos y bacterias están influenciadas por un conjunto de factores medioambientales (Likar *et al.*, 2017).

Comparando las cuatro parcelas, se observa que en todos los casos la población de levaduras (del orden de 10^3) es inferior a las poblaciones de bacterias (del orden de 10^6), lo cual se consideran valores habituales teniendo en cuenta otros estudios similares y la época del año en la que se realizó el muestreo (Corneo *et al.*, 2013). Sería interesante realizar este análisis en la época de vendimias para estudiar la evolución de la población de levaduras.

En general, en todas las parcelas existe cierto equilibrio entre las poblaciones de actinomicetos (descomponedores) y las poblaciones de fijadores de N. Además, en todos los casos, las poblaciones de aerobios están en el mismo orden de 10^6 UFC/g PS que las de actinomicetos y de fijadores de N.

Tabla 3. Poblaciones microbianas en cada parcela estudiada [\log_{10} (UFC / g de PS)].

Parcelas	Levaduras (media $\pm\sigma$)	Actinomicetos (media $\pm\sigma$)	Fijadores N (media $\pm\sigma$)	Aerobios (media $\pm\sigma$)
ECO	3,89 \pm 0,54	6,97 \pm 0,23	6,70 \pm 0,24	6,32 \pm 0,14
CON	3,81 \pm 0,31	6,63 \pm 0,22	6,36 \pm 0,50	6,80 \pm 0,47
SIN	3,60 \pm 0,22	6,61 \pm 0,20	6,55 \pm 0,22	6,14 \pm 0,12
PEN	3,05 \pm 0,08	6,42 \pm 0,16	6,34 \pm 0,12	5,73 \pm 0,18

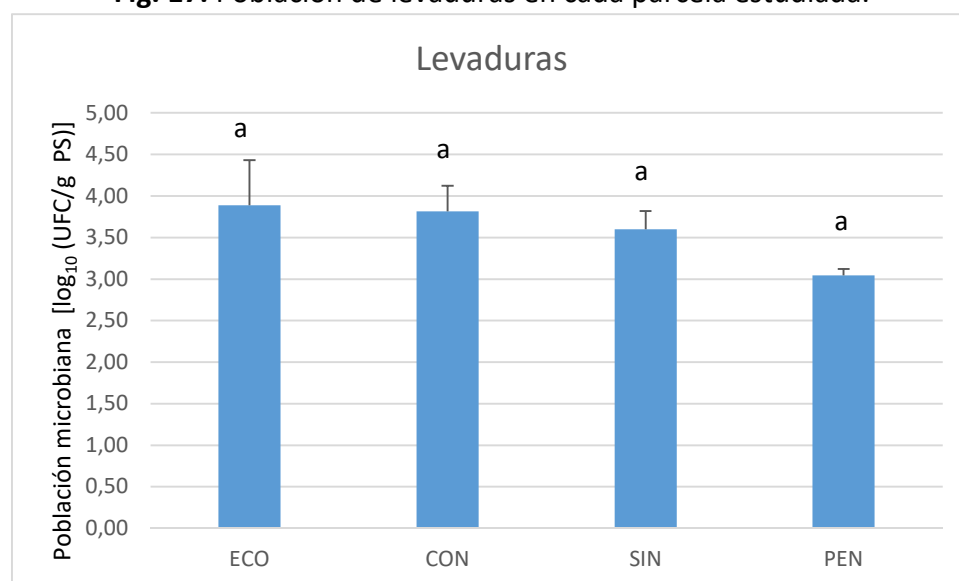
Media de las cinco repeticiones por parcela.

Poblaciones microbianas por tipo de microorganismo

Respecto a cada familia de microorganismos comparada entre los diferentes sistemas de cultivo o topografía, comprobamos lo siguiente:

Las poblaciones de levaduras presentan valores similares en todas las parcelas, si bien la parcela ecológica en pendiente queda por debajo del resto, probablemente debido al menor contenido en materia orgánica observado, si bien esta diferencia no es estadísticamente significativa.

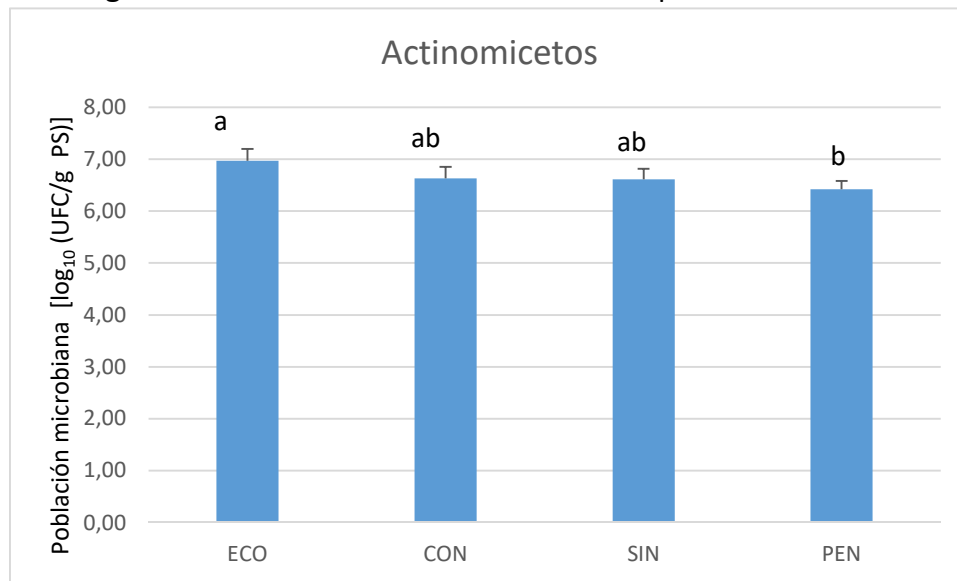
Fig. 17. Población de levaduras en cada parcela estudiada.



Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas entre los valores.

Las poblaciones de actinomicetos presentan una diferencia significativa entre la parcela con cultivo ecológico, que presenta la mayor población (valor próximo a 10^7), y el suelo en pendiente con los valores más bajos. El suelo con pendiente es el sometido a mayor erosión y lixiviación, lo cual explica la menor cantidad de materia orgánica (Fig. 12) y menor población de estos microorganismos descomponedores.

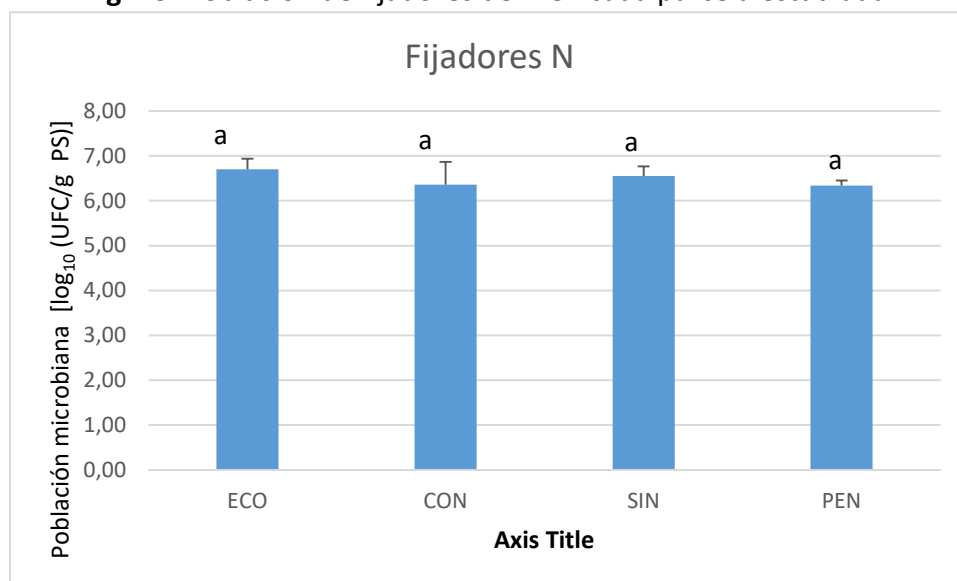
Fig. 18. Población de actinomicetos en cada parcela estudiada.



Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas entre los valores.

Respecto a los fijadores de N, no aparecen diferencias estadísticamente significativas entre las poblaciones de las parcelas estudiadas. La parcela en pendiente presenta menor desviación y un valor medio más bajo que el resto de tratamientos. La cubierta vegetal no ha supuesto un mayor incremento de estas poblaciones, en parte podría deberse a que la vegetación es espontánea y no se habían sembrado leguminosas. En todo caso, la fijación de N puede realizarse de diversas formas: bacterias libres (*Bacillus*, *Klebsiella*, *Clostridium*, etc.); bacterias simbióticas del género de leguminosas *Rhizobium*, o actinobacterias del género *Frankia* en no leguminosas; cianobacterias como *Nostoc*, y bacterias de los géneros *Azotobacter* y *Azospirillum* (Hopkins *et al.*, 2010).

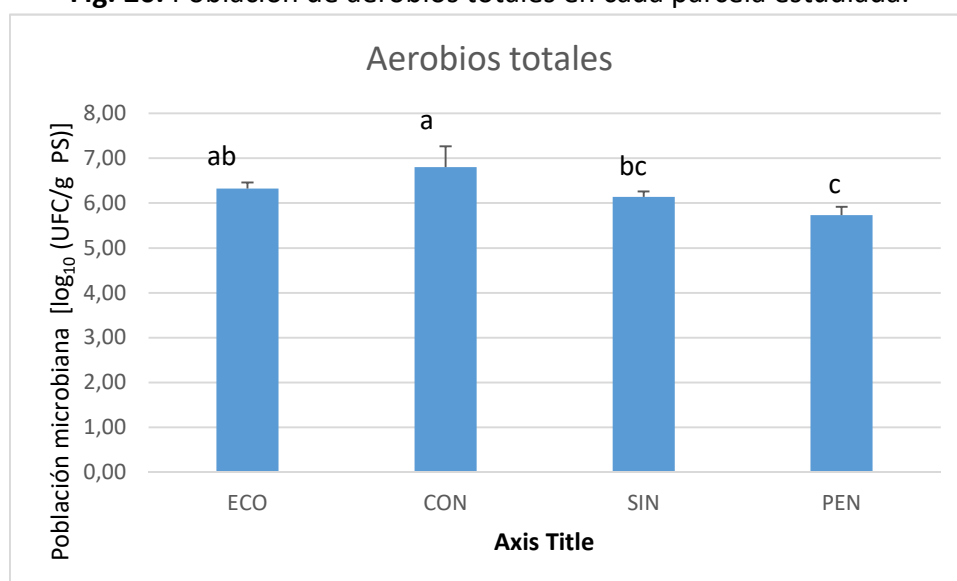
Fig. 19. Población de fijadores de N en cada parcela estudiada.



Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas entre los valores.

En cuanto a las poblaciones de aerobios totales, destaca el cultivo con cubierta vegetal con valores próximos a 10^7 . Ello podría deberse a un mayor esponjamiento del terreno por medio del sistema radicular de la cubierta vegetal que favorece un mayor número de poros para el establecimiento de este tipo de microorganismos. Como en el resto de casos, el cultivo en pendiente presenta las menores poblaciones, con valores de 10^5 , en parte por el menor contenido en materia orgánica, por su contenido en arcilla, que podría reducir el número de poros, y por el efecto de la erosión y la lixiviación.

Fig. 20. Población de aerobios totales en cada parcela estudiada.



Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas entre los valores.

Finalmente, el análisis de componentes principales dio como resultado la Función 1, que explica el 62,7 % de la varianza y depende de las variables: relación C/N y la cantidad de materia orgánica; y la Función 2 que explica el 37,3 % de la varianza.

Tabla 4. Autovalores del análisis de componentes principales.

Función	Autovalor	% varianza	% acumulado	Corrección canónica
1	6,402 ^a	62,7	62,7	0,930
2	3,814 ^a	37,3	100,0	0,890

Tabla 5. Coeficientes de función discriminante canónica estandarizadas.

	Función	
	1	2
Relación C/N	0,680	-1,194
Materia orgánica	0,403	1,313

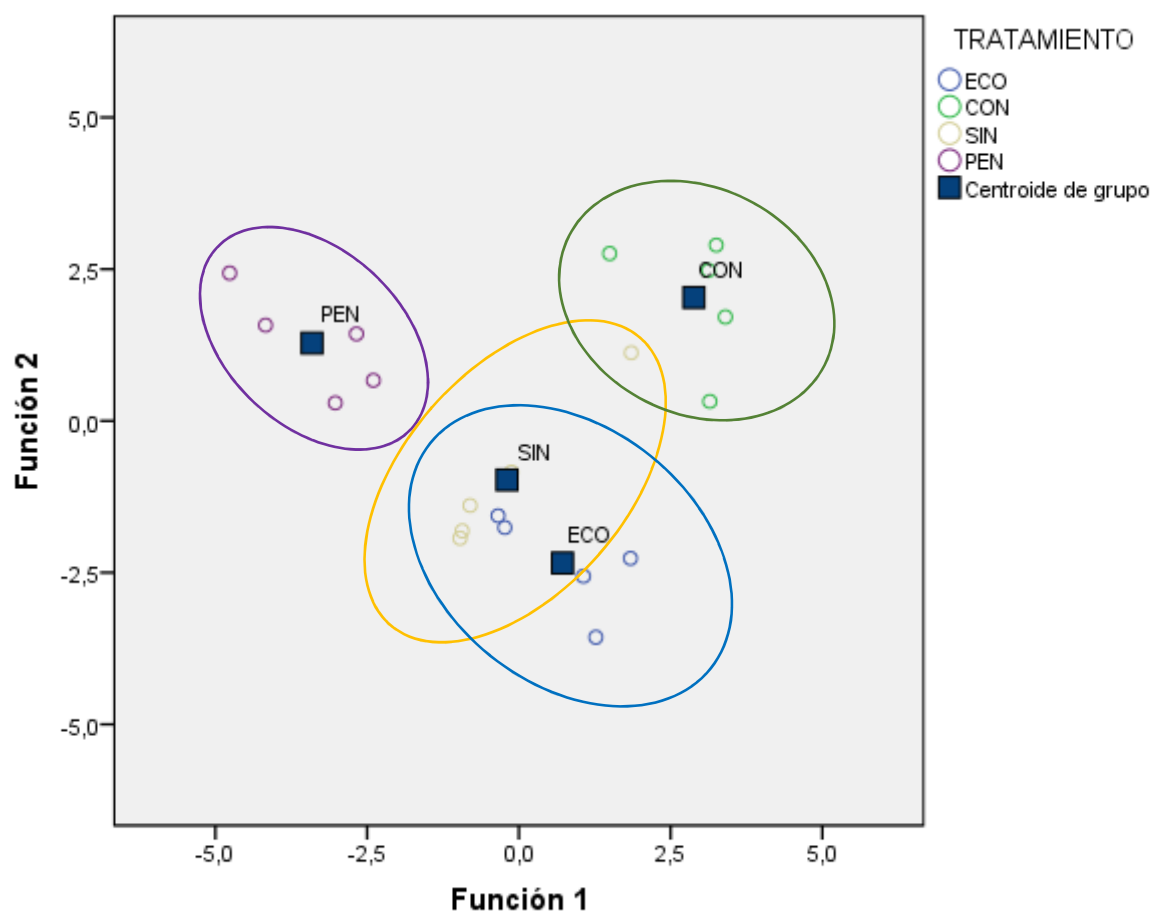


Fig. 21. Análisis de componentes principales. La Función 1 explica el 62,7 % de la varianza y viene determinada por las variables: relación C/N y contenido en materia orgánica. La Función 2 explica el 37,3 % de la varianza.

5. CONCLUSIONES

1. Se ha llevado a cabo el estudio agronómico, físico-químico y microbiológico de los suelos de cuatro parcelas de viñedo de la finca de la Grajera, obteniéndose diferencias significativas entre ellos.
2. La relación C/N de suelo del cultivo en pendiente ($4,6 \pm 0,7$) fue significativamente inferior a los valores del resto de parcelas, lo cual indica una menor fertilidad de este suelo y peores condiciones para la actividad microbiana. Este resultado concuerda con los resultados de la población de microorganismos descomponedores de materia orgánica y de aerobios totales.
3. La parcela con cubierta vegetal presentó los valores más altos de materia orgánica y de contenido en nitrógeno, y estos resultados se correlacionan con la población más elevada de aerobios totales que presentó este suelo de viñedo.
4. La parcela con cultivo ecológico presentó la máxima población de microorganismos descomponedores. Esta parcela junto con la de cubierta vegetal presentaron los valores más altos y estadísticamente significativos de aerobios totales.
5. La parcela con manejo convencional presentó poblaciones microbianas muy semejantes a las de la parcela con manejo ecológico, con valores inferiores a los obtenidos en la parcela con cubierta vegetal.
6. Las poblaciones de levaduras presentes en el suelo en todos los casos fueron del orden de 10^3 veces inferiores a las poblaciones de los otros microorganismos estudiados.
7. El manejo del cultivo y las características topográficas del viñedo tienen un efecto sobre la microbiota presente en el suelo que presenta diferencias estadísticamente significativas entre las poblaciones de las distintas familias de microorganismos estudiados.

6. REFERENCIAS

- Balser, T.C., Wixon, D., Moritz, L.K., and Lipps, L. (2010). The Microbiology of Natural Soils. *Soil Microbiology and Sustainable Crop Production* (Dixon, G.R., and Tilston, E.L., eds.), pp. 27-57. Springer Science+Business Media. doi: 10.1007/978-90-481-9479-7_2
- Burns, K.N., Kluepfel, D.A., Strauss, S.L., Bokulich, N.A., Cantu, D., and Steenwerth, K.L. (2015). Vineyard soil bacterial diversity and composition revealed by 16S rRNA genes: differentiation by geographic features. *Soil Biology and Biochemistry* 91, 232-247. doi: 10.1016/j.soilbio.2015.09.002
- Burns K. N., Bokulich N. A., Cantu D., Greenhut R. F., Kluepfel D. A., O'Geen A. T., Strauss S. L., and Steenwerth K. L. (2016). Vineyard soil bacterial diversity and composition revealed by 16S rRNA genes: differentiation by vineyard management. *Soil Biology and Biochemistry* 103, 337-348. doi: 10.1016/j.soilbio.2016.09.007
- Corneo, P. E., Pellegrini, A., Cappellin, L., Roncador, M., Chierici, M., Gessler, C., and Pertot, I. (2013). Microbial community structure in vineyard soils across altitudinal gradients and in different seasons. *FEMS Microbiology Ecology* 84, 588-602. doi: 10.1111/1574-6941.12087
- Delgado, A. and Gómez, J.A. (2016). The soil. Physical, Chemical and Biological Properties. *Principles of Agronomy for Sustainable Agriculture* (Villalobos, F.J., and Fereres, E., eds.), pp. 15-26. Springer International Publishing. doi: 10.1007/978-3-319-46116-8_2
- Hopkins, D.W. and Dungait, J.A.J (2010). Soil Microbiology and Nutrient Cycling. *Soil Microbiology and Sustainable Crop Production* (Dixon, G.R., and Tilston, E.L., eds.), pp. 59-80. Springer Science+Business Media. doi: 10.1007/978-90-481-9479-7_2
- Likar, M., Stres, B., Rusjan, D., Potisek, M., Regvar, M. (2017). Ecological and conventional viticulture gives rise to distinct fungal and bacterial microbial communities in vineyard soils. *Applied Soil Ecology* 113, 86-95. doi: 10.1016/j.apsoil.2017.02.007
- Lupatini, M., Korthals, G.W., de Hollander, M., Janssens, T.K.S., and Kuramae, E.E. (2017). Soil microbiome is more heterogeneous in organic than in conventional farming system. *Frontiers in Microbiology* 7:2064. doi: 10.3389/fmicb.2016.02064
- Quemada, M., Delgado, A., Mateos, L., and Villalobos, F. J. (2016). Nitrogen fertilization I: the nitrogen balance. *Principles of Agronomy for Sustainable Agriculture* (Villalobos, F.J., Fereres, E., eds.), pp. 341-368. Springer International Publishing. doi: 10.1007/978-3-319-46116-8_2
- Ruiz-Colmenero, M., Bienes, R., Eldridge, D.J., and Marques, M.J. (2013), Vegetation cover reduces erosion and enhances soil organic carbon in a vineyard in the central Spain. *Catena* 104, 153-160. doi: 10.1016/j.catena.2012.11.007
- Soil Service Staff, (2014). *Keys to Soil Taxonomy*, (12th ed.). USDA-Natural Resources Conservation Service, Washington, DC.
- Samad, A., Trognitz, F., Compant, S., Antonielli, L., and Sessitsch, A. (2017). Shared and host-specific microbiome diversity and functioning of grapevine and accompanying weed plants. *Environmental Microbiology* 19, 1407–1424. doi:10.1111/1462-2920.13618
- Zarraonaindia, I., and Gilbert, J.A. (2015). Understanding grapevine-microbiome interactions: implications for viticulture industry. *Microbial Cell* 2(5): 171-173. doi: 10.15698/mic2015.05.204

Páginas de internet consultadas:

- [http: www.biodivine.eu/](http://www.biodivine.eu/)
- <https://www.nrcs.usda.gov/wps/portal/nrcs/main/soils/survey/class/taxonomy/>
- <http://www.larioja.org/agricultura/es/informacion-agroclimatica>

7. ANEXOS

ANEXO I: Resultados edafológicos.

Determinación	SIN CUBIERTA	CON CUBIERTA	EN PENDIENTE	ECOLÓGICO
ARENA %	49.3	42.1	13.7	67.1
LIMO %	36.5	44.1	59.0	24.0
LIMO-SI %	23.7	29.4	44.0	13.8
ARCILLA %	14.1	13.9	27.4	8.90
CARBONATOS %	15.4	17.1	18.7	14.3
CALIZA ACTIVA %	3.50	4.40	5.80	2.40
MATATERIA ORGÁNICA OXIDABLE %	1.02	1.90	0.650	1.04
pH	8.3	8.1	8.2	8.1
CONDUCTIVIDAD Mmhos/cm	0.18	0.24	0.21	0.17
CALCIO ASIMILABLE mEq/100 g suelo	8.1	12.0	9.0	6.2
MAGNESIO ASIMILABLE mEq/100 g suelo	0.59	0.93	2.62	0.53
ALUMINIO p.p.m.	127	95.1	69.4	48.4
CALCIO p.p.m.	23487	17191	25678	26028
COBRE p.p.m.	4.33	7.65	4.09	9.27
FÓSFORO p.p.m.	57.8	71.1	34.9	48.9
HIERRO p.p.m.	109	99.4	82.1	69.8
MAGNESIO p.p.m.	279	277	573	316
MANGANESO p.p.m.	82.1	81.8	89.0	68.8
PLOMO p.p.m.	2.1	2.0	3.3	1.6
POTASIO p.p.m.	272	390	243	322
SODIO p.p.m.	27.0	31.0	59.0	23.0
SULFATOS p.p.m.	108	120	190	99
ZINC p.p.m.	2.43	2.68	2.25	3.74
BORO p.p.m.	1.2	1.5	0.8	0.9

ANEXO II: Temperatura y precipitación acumulada (estación de La Grajera).

Fecha	Tª suelo (Celsius)			P (L/m²)
	Max	Med	Min	Ac
nov-16	15,5	9,3	5,2	85,2
dic-16	10,2	6,8	2,8	12,7
ene-17	8,8	4,1	1,2	37,4
feb-17	11,5	7,3	3,7	28,9

ANEXO III: Resultados microbiológicos.

Repetición	MEDIO	DILUCIÓN	COLONIAS	UFC/g de PS	media	log ₁₀ (UFC/g de PS)
ECO1.T1	YPD	10 ⁻¹	6	11.494	40.230	4,60
ECO1.T1	YPD	10 ⁻²	3	68.966		
ECO1.T1	AIA	10 ⁻²	312	7.172.414	8.183.908	6,91
ECO1.T1	AIA	10 ⁻³	40	9.195.402		
ECO1.T1	BURK'S	10 ⁻²	408	9.379.310	10.206.897	7,01
ECO1.T1	BURK'S	10 ⁻³	48	11.034.483		
ECO1.T1	PCA	10 ⁻²	48	1.103.448	2.206.897	6,34
ECO1.T1	PCA	10 ⁻³	14	3.218.391		
ECO1.T1	PCA	10 ⁻⁴	1	2.298.851		
ECO2.T1	YPD	10 ⁻¹	10	1	1	0,00
ECO2.T1	AIA	10 ⁻²	268	6.139.748	6.277.205	6,80
ECO2.T1	AIA	10 ⁻³	28	6.414.662		
ECO2.T1	BURK'S	10 ⁻²	124	2.840.779	2.321.497	6,37
ECO2.T1	BURK'S	10 ⁻³	8	1.832.761		
ECO2.T1	BURK'S	10 ⁻⁴	1	2.290.951		
ECO2.T1	PCA	10 ⁻²	74	1.695.304	2.092.402	6,32
ECO2.T1	PCA	10 ⁻³	10	2.290.951		
ECO2.T1	PCA	10 ⁻⁴	1	2.290.951		
ECO3.T1	YPD	10 ⁰	36	8.324	9.942	4,00
ECO3.T1	YPD	10 ⁻¹	5	11.561		
ECO3.T1	AIA	10 ⁻²	320	7.398.844	6.473.988	6,81
ECO3.T1	AIA	10 ⁻³	24	5.549.133		
ECO3.T1	BURK'S	10 ⁻²	184	4.254.335	4.092.486	6,61
ECO3.T1	BURK'S	10 ⁻³	17	3.930.636		
ECO3.T1	PCA	10 ⁻²	62	1.433.526	1.788.054	6,25
ECO3.T1	PCA	10 ⁻³	7	1.618.497		
ECO3.T1	PCA	10 ⁻⁴	1	2.312.139		
ECO4.T1	YPD	10 ⁰	14	3.182	3.864	3,59
ECO4.T1	YPD	10 ⁻¹	2	4.545		
ECO4.T1	AIA	10 ⁻²	904	20.545.455	22.545.455	7,35
ECO4.T1	AIA	10 ⁻³	108	24.545.455		
ECO4.T1	BURK'S	10 ⁻²	248	5.636.364	5.204.545	6,72
ECO4.T1	BURK'S	10 ⁻³	21	4.772.727		
ECO4.T1	PCA	10 ⁻²	95	2.159.091	3.446.970	6,54
ECO4.T1	PCA	10 ⁻³	16	3.636.364		
ECO4.T1	PCA	10 ⁻⁴	2	4.545.455		
ECO5.T1	YPD	10 ⁻¹	1	2.347	2.347	3,37
ECO5.T1	AIA	10 ⁻²	544	12.769.953	9.553.991	6,98
ECO5.T1	AIA	10 ⁻³	27	6.338.028		
ECO5.T1	BURK'S	10 ⁻²	256	6.009.390	6.408.451	6,81
ECO5.T1	BURK'S	10 ⁻³	29	6.807.512		
ECO5.T1	PCA	10 ⁻²	65	1.525.822	1.467.136	6,17
ECO5.T1	PCA	10 ⁻³	6	1.408.451		
CON1.T1	YPD	10 ⁻¹	8	18.957	18.957	4,28
CON1.T1	AIA	10 ⁻²	364	8.625.592	6.682.464	6,82
CON1.T1	AIA	10 ⁻³	20	4.739.336		
CON1.T1	BURK'S	10 ⁻²	179	4.241.706	5.438.389	6,74

Repetición	MEDIO	DILUCIÓN	COLONIAS	UFC/g de PS	media	log ₁₀ (UFC/g de PS)
CON1.T1	BURK'S	10 ⁻³	28	6.635.071		
CON1.T1	PCA	10 ⁻²	800	18.957.346	19.747.235	7,30
CON1.T1	PCA	10 ⁻³	80	18.957.346		
CON1.T1	PCA	10 ⁻⁴	9	21.327.014		
CON2.T1	YPD	10 ⁰	17	3.972	4.322	3,64
CON2.T1	YPD	10 ⁻¹	2	4.673		
CON2.T1	AIA	10 ⁻²	256	5.981.308	4.275.701	6,63
CON2.T1	AIA	10 ⁻³	11	2.570.093		
CON2.T1	BURK'S	10 ⁻²	234	5.467.290	5.537.383	6,74
CON2.T1	BURK'S	10 ⁻³	24	5.607.477		
CON2.T1	PCA	10 ⁻²	200	4.672.897	10.436.137	7,02
CON2.T1	PCA	10 ⁻³	84	19.626.168		
CON2.T1	PCA	10 ⁻⁴	3	7.009.346		
CON3.T1	YPD	10 ⁻¹	2	4.673	4.673	3,67
CON3.T1	AIA	10 ⁻²	216	5.046.729	6.495.327	6,81
CON3.T1	AIA	10 ⁻³	34	7.943.925		
CON3.T1	BURK'S	10 ⁻²	53	1.238.318	2.371.495	6,38
CON3.T1	BURK'S	10 ⁻³	15	3.504.673		
CON3.T1	PCA	10 ⁻²	248	5.794.393	8.084.112	6,91
CON3.T1	PCA	10 ⁻³	49	11.448.598		
CON3.T1	PCA	10 ⁻⁴	3	7.009.346		
CON4.T1	YPD	10 ⁻¹	2	4.739	4.739	3,68
CON4.T1	AIA	10 ⁻²	208	4.928.910	4.123.223	6,62
CON4.T1	AIA	10 ⁻³	14	3.317.536		
CON4.T1	BURK'S	10 ⁻²	118	2.796.209	2.796.209	6,45
CON4.T1	PCA	10 ⁻²	240	5.687.204	5.331.754	6,73
CON4.T1	PCA	10 ⁻³	21	4.976.303		
CON5.T1	YPD	10 ⁻¹	10	1	1	0,00
CON5.T1	AIA	10 ⁻²	60	1.408.451	1.877.934	6,27
CON5.T1	AIA	10 ⁻³	10	2.347.418		
CON5.T1	BURK'S	10 ⁻²	14	328.638	328.638	5,52
CON5.T1	PCA	10 ⁻²	34	798.122	1.126.761	6,05
CON5.T1	PCA	10 ⁻³	1	234.742		
CON5.T1	PCA	10 ⁻⁴	1	2.347.418		
SIN1.T1	YPD	10 ⁰	38	8.776	6.697	3,83
SIN1.T1	YPD	10 ⁻¹	2	4.619		
SIN1.T1	AIA	10 ⁻²	244	5.635.104	3.625.866	6,56
SIN1.T1	AIA	10 ⁻³	7	1.616.628		
SIN1.T1	BURK'S	10 ⁻²	334	7.713.626	5.496.536	6,74
SIN1.T1	BURK'S	10 ⁻³	18	4.157.044		
SIN1.T1	BURK'S	10 ⁻⁴	2	4.618.938		
SIN1.T1	PCA	10 ⁻²	92	2.124.711	2.093.918	6,32
SIN1.T1	PCA	10 ⁻³	8	1.847.575		
SIN1.T1	PCA	10 ⁻⁴	1	2.309.469		
SIN2.T1	YPD	10 ⁰	9	2.039	3.284	3,52
SIN2.T1	YPD	10 ⁻¹	2	4.530		
SIN2.T1	AIA	10 ⁻²	186	4.212.911	3.691.959	6,57
SIN2.T1	AIA	10 ⁻³	14	3.171.008		
SIN2.T1	BURK'S	10 ⁻²	122	2.763.307	2.967.157	6,47

Repetición	MEDIO	DILUCIÓN	COLONIAS	UFC/g de PS	media	log ₁₀ (UFC/g de PS)
SIN2.T1	BURK'S	10 ⁻³	14	3.171.008		
SIN2.T1	PCA	10 ⁻²	58	1.313.703	1.109.853	6,05
SIN2.T1	PCA	10 ⁻³	4	906.002		
SIN3.T1	YPD	10 ⁰	4	913	2.740	3,44
SIN3.T1	YPD	10 ⁻¹	2	4.566		
SIN3.T1	AIA	10 ⁻²	218	4.977.169	3.059.361	6,49
SIN3.T1	AIA	10 ⁻³	5	1.141.553		
SIN3.T1	BURK'S	10 ⁻²	248	5.662.100	6.453.577	6,81
SIN3.T1	BURK'S	10 ⁻³	30	6.849.315		
SIN3.T1	BURK'S	10 ⁻⁴	3	6.849.315		
SIN3.T1	PCA	10 ⁻²	93	2.123.288	1.404.110	6,15
SIN3.T1	PCA	10 ⁻³	3	684.932		
SIN4.T1	YPD	10 ⁻¹	3	6.944	6.944	3,84
SIN4.T1	AIA	10 ⁻²	208	4.814.815	2.986.111	6,48
SIN4.T1	AIA	10 ⁻³	5	1.157.407		
SIN4.T1	BURK'S	10 ⁻²	120	2.777.778	2.662.037	6,43
SIN4.T1	BURK'S	10 ⁻³	11	2.546.296		
SIN4.T1	PCA	10 ⁻²	54	1.250.000	1.435.185	6,16
SIN4.T1	PCA	10 ⁻³	7	1.620.370		
SIN5.T1	YPD	10 ⁻¹	1	2.323	2.323	3,37
SIN5.T1	AIA	10 ⁻²	424	9.849.013	9.337.979	6,97
SIN5.T1	AIA	10 ⁻³	38	8.826.945		
SIN5.T1	BURK'S	10 ⁻²	128	2.973.287	1.997.677	6,30
SIN5.T1	BURK'S	10 ⁻³	3	696.864		
SIN5.T1	BURK'S	10 ⁻⁴	1	2.322.880		
SIN5.T1	PCA	10 ⁻²	30	696.864	1.045.296	6,02
SIN5.T1	PCA	10 ⁻³	6	1.393.728		
PEN1.T1	YPD	10 ⁰	5	1.168	1.168	3,07
PEN1.T1	AIA	10 ⁻²	112	2.616.822	1.775.701	6,25
PEN1.T1	AIA	10 ⁻³	4	934.579		
PEN1.T1	BURK'S	10 ⁻¹	320	747.664	2.274.143	6,36
PEN1.T1	BURK'S	10 ⁻²	80	1.869.159		
PEN1.T1	BURK'S	10 ⁻³	18	4.205.607		
PEN1.T1	PCA	10 ⁻²	21	490.654	478.972	5,68
PEN1.T1	PCA	10 ⁻³	2	467.290		
PEN2.T1	YPD	10 ⁰	6	1.415	1.415	3,15
PEN2.T1	AIA	10 ⁻²	142	3.349.057	2.853.774	6,46
PEN2.T1	AIA	10 ⁻³	10	2.358.491		
PEN2.T1	BURK'S	10 ⁻¹	760	1.792.453	1.462.264	6,17
PEN2.T1	BURK'S	10 ⁻²	80	1.886.792		
PEN2.T1	BURK'S	10 ⁻³	3	707.547		
PEN2.T1	PCA	10 ⁻²	13	306.604	271.226	
PEN2.T1	PCA	10 ⁻³	1	235.849		
PEN3.T1	YPD	10 ⁰	4	952	952	2,98
PEN3.T1	AIA	10 ⁻²	215	5.119.048	3.630.952	6,56
PEN3.T1	AIA	10 ⁻³	9	2.142.857		
PEN3.T1	BURK'S	10 ⁻¹	936	2.228.571	3.044.444	6,48
PEN3.T1	BURK'S	10 ⁻²	180	4.285.714		
PEN3.T1	BURK'S	10 ⁻³	11	2.619.048		

Repetición	MEDIO	DILUCIÓN	COLONIAS	UFC/g de PS	media	log ₁₀ (UFC/g de PS)
PEN3.T1	PCA	10 ⁻²	11	261.905	726.190	5,86
PEN3.T1	PCA	10 ⁻³	5	1.190.476		
PEN4.T1	YPD	10 ⁰	5	1.176		
PEN4.T1	AIA	10 ⁻²	162	3.811.765	3.788.235	6,58
PEN4.T1	AIA	10 ⁻³	16	3.764.706		
PEN4.T1	BURK'S	10 ⁻¹	816	1.920.000	2.381.176	6,38
PEN4.T1	BURK'S	10 ⁻²	132	3.105.882		
PEN4.T1	BURK'S	10 ⁻³	9	2.117.647		
PEN4.T1	PCA	10 ⁻²	36	847.059	776.471	5,89
PEN4.T1	PCA	10 ⁻³	3	705.882		
PEN5.T1	YPD	10 ⁰	4	911	911	2,96
PEN5.T1	AIA	10 ⁻²	115	2.619.590	1.879.271	6,27
PEN5.T1	AIA	10 ⁻³	5	1.138.952		
PEN5.T1	BURK'S	10 ⁻¹	604	1.375.854	1.977.221	6,30
PEN5.T1	BURK'S	10 ⁻²	140	3.189.066		
PEN5.T1	BURK'S	10 ⁻³	6	1.366.743		
PEN5.T1	PCA	10 ⁻²	24	546.697	615.034	5,79
PEN5.T1	PCA	10 ⁻³	3	683.371		